.85.H54
41

LIBRARY
FISH & WILDLIFE SERVICE
PACIFIC OCEANIC FISHERY
INVESTIGATIONS

Núm. 41 15 de marzo de 1951

JUN 26 1951

BOLETIN
DEL
INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA

Consideraciones sobre el comportamiento del ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb.) en relación con el proceso de maduración y de freza.

por

BUENAVENTURA ANDREU

MINISTERIO DE MARINA

MADRID

NUMEROS PUBLICADOS

6.—Fernando Lozano: «Notas sobre la biología y biometría de la parrocha o sardina joven de Vigo (*Sardina pilchardus*)».

7.—Jose M.ª Navaz: «Nueva contribución al estudio de la anchoa de la costa vasca».

8.—Antonio Arévalo: «Estudio de la variación en la composición química del jurel, *Trachurus trachurus* (L.)».

9.—Fernando Lozano: «Relación de una campaña de pesca de arrastre en pareja en la costa del Sáhara Español, y noticia sobre los otros tipos de pescas allí practicados».

10.—Francisco de P Navarro: «Los Clupeidos y la Anchoa de las costas españolas en el invierno 1947-1948. Observaciones biométricas y biológicas de los Laboratorios Oceanográficos».

11.—José M.ª Navaz: «Estudio de la Ría de Pasajes en relación con su producción de moluscos comestibles (Con una carta bionómica)».

12.—Antonio Fernández del Riego: «Iniciación al estudio de la variación estacional del valor alimenticio de la sardina (*Sardina pilchardus* Walb.)».

13.—M.ª Jesús del Val y M.ª Dolores García Pineda: «Ensayos de algas marinas industriales».

14.—Francisco Poggio y María Martín Retortillo: «Espectro de absorción de los aceites de oliva en la zona ultravioleta».

15.—Miguel Oliver: «Contribución al estudio de la biometría y biología de la faneca, *Gadus luscus* (L.)».

16.—Juan Antonio Samalea: «Exploración del Banco del Xauen, accidente topográfico descubierto frente al Peñón de Vélez de la Gomera».

17.—Emma Bardán, F. de P. Navarro y O. Rodríguez: «Nuevos datos sobre la sardina del Mar de Alborán (agosto de 1948 a marzo de 1949)».

18.—Campañas del «Xauen» en 1947 y 1948 en el Mar de Alborán y en el Estrecho de Gibraltar.—Registro de operaciones.

19.—Luis Bellón y Emma Bardán de Bellón: «Algunos datos sobre los *Thunnidae* de Canarias».

20.—José Amengual-Ferragut: «Ensayo de sistemática biocenótica aplicada al estudio de los yacimientos de moluscos, con un estudio inicial de los yacimientos de la ría de Noya».

21.—M.ª Luisa González Sabariegos: «Introducción al estudio de la transparencia del agua del mar».

22.—Buenaventura Andreu: «Sobre la presencia de dos cercarias en el ovario de almeja (*Tapes aureus* Gmelin) de la bahía de Santander».

23.—Campañas del «Malaspina» en 1947 y 1948 en aguas del Sáhara, desde Cabo Juby a Punta Durnford.—Registro de operaciones.

(Sigue en tercera página de la cubierta.)

Boletín del Instituto Español de Oceanografía

Número 41 15 de marzo de 1951

CONSIDERACIONES SOBRE EL COMPORTAMIENTO DEL OVARIO DE SARDINA *(SARDINA PILCHARDUS* WALB.*)* EN RELACION CON EL PROCESO DE MADURACION Y DE FREZA

por

BUENAVENTURA ANDREU

Diversos autores (Kisselevitch, 1923; Mayenne, 1927; Hickling, 1930; Raitt, 1932, y Hickling y Rutenberg, 1936) han llegado a la conclusión de que en el ovario de los peces adultos existe un «stock» general de pequeños ovocitos de los que, en cada estación de freza, se destacan una o varias series que manifiestan los primeros síntomas de maduración. Son los que, más tarde, constituirán el «stock» de óvulos dispuestos para la freza.

En distintas especies de peces han sido practicadas mediciones del diámetro de los huevos intraováricos para poner de manifiesto las características de la freza (Thompson, 1915; Heidrich, 1925; Clark, 1925, 1934).

Hickling y Rutenberg (1936) hacen resaltar que este método adquiere especial interés cuando se pretende conocer la duración del período de freza en peces de habitat de puesta desconocido. Para ello utilizan ovarios en maduración avanzada, próximos a la freza.

Clark (1934), aplicando este método a ovarios de *Sardinops caerulea* en distintos estados de maduración, obtiene una serie de curvas que muestran gráficamente que los huevos destinados a la freza en una estación de puesta se van separando de una manera discontinua, en varios grupos, del «stock» general de ovocitos.

Biétrix (1890), al estudiar la estructura del ovario de *Sardina pilchardus*, observó que no todos los ovocitos maduraban al mismo

tiempo. Esta observación ha sido confirmada por Le Gall y Priol (1933), al anotar que las gonadas de sardina no son evacuadas de un solo golpe.

Ya hemos señalado (Andreu, 1950) lo poco frecuente que es encontrar sardinas con los ovarios en plena madurez, aun en la época de mayor intensidad de freza. Con ello confirmamos lo expuesto por otros autores: Desbrosses (1933) no encuentra en las costas de Bretaña ningún ejemplar en condiciones de freza; Murat (1935) señala que las sardinas maduras son raramente capturadas en la bahía de Castiglione. En cambio, Hickling (1945), con material procedente de Cornwall, llega a encontrar en el mes más favorable hasta el 16 por 100 de hembras en las citadas condiciones. Conviene señalar que Clark (1934), tras once años de observaciones sobre *Sardinops caerulea*, encuentra tan sólo cuatro hembras en plena madurez.

Milroy (1898), y posteriormente Hickling (1945), han observado que el aumento de volumen experimentado por el ovario en esta última fase es debido a la absorción de agua por los óvulos, como han tenido ocasión de demostrar mediante análisis químicos de ovarios maduros y en vías de maduración, los cuales ponen de manifiesto que, prácticamente, la cantidad de sustancia seca es la misma para ambos.

Todo esto parece indicar que la última fase madurativa del ovario es muy fugaz, al igual que ya dejamos anotado en la anchoa (*Engraulis encrasicholus* L.) (Andreu, 1950).

La curva de frecuencias deducida de mediciones de huevos intraováricos en hembras maduras de *Sardina pilchardus* resulta semejante a la obtenida por Clark (1934) en *Sardinops caerulea*. Esto sugiere la posibilidad de que nuestra sardina se comporte de igual manera que la descrita por este autor en la especie mencionada. Pero, no obstante, el período de freza en las hembras parece ser demasiado corto para que puedan tener lugar diversas reorganizaciones del ovario consecutivas a otros tantos momentos de freza dentro de una misma estación de puesta, sobre todo teniendo en cuenta que los fenómenos degenerativos observados a simple vista en hembras frezadas duran mucho tiempo. El período de freza señalado por distintos autores varía entre dos y cinco meses (Fage: en el Mediterráneo, diciembre, enero y febrero; en el Atlántico, W. de España, febrero y marzo; en el golfo de Gascuña, mayo a junio; en el Canal de la Mancha, junio, julio y agosto. Hickling, M. A.: en Cornwall, abril, mayo, junio y julio, sobre todo los tres últimos. An-

dreu: en las costas de Levante español, de noviembre a febrero). Sin embargo, merece tenerse en cuenta que no todos los individuos maduran simultáneamente, sino que mientras unos están en pleno desove, los demás, o bien ya lo han efectuado (observándose en este caso fenómenos degenerativos en el ovario), o bien, por el contrario, sus gónadas presentan síntomas de desarrollo tardío.

En el curso del presente trabajo no pretendemos haber dejado resuelto el problema planteado por la curva de frecuencias del diámetro de los óvulos, que parece indicar una multiplicidad de puestas para cada sardina en un mismo período de freza. Dejamos tan sólo iniciado un estudio que puede conducir a la solución definitiva de tan interesante problema.

MATERIAL Y METODOS

Los ovarios de sardina estudiados proceden de pescas efectuadas en los puertos de Santander (marzo-septiembre 1948), Vinaroz (octubre-febrero 1949) y Castellón (noviembre 1949-marzo 1950). Cada ovario, según su tamaño, fué dividido en cierto número de porciones que fueron sumergidas en el líquido fijador, poco tiempo después de la llegada de la pesca al puerto. Como fijador se ha usado preferentemente el formol neutro, que se ha preparado diluyendo el formol comercial (40 por 100) en agua en razón de 1 : 9. En ocasiones se utilizó también el líquido de Bouin. En el primer caso las piezas fueron conservadas en formol, renovado a la misma concentración; en el segundo, después de bien lavadas en agua corriente, se guardaron en alcohol de 70°. Las inclusiones iniciales hechas con parafina por los métodos corrientes hubieron de ser rechazadas por la gran fragilidad adquirida por las piezas, que impedía la obtención de cortes adecuados. Sin embargo, con el método mixto de celoidina-parafina de Peterfi (ref. Romeis), se obtuvieron resultados excelentes. Para el estudio de los lípidos las piezas fueron incluídas en gelatina (método de Del Río-Hortega) y cortes efectuados mediante el microtomo de congelación. Los colorantes empleados han sido hematoxilina-eosina, y Sudán III-hematoxilina.

Las mediciones fueron practicadas al microscopio a 100 aumentos mediante micrómetro ocular. Para tener certeza de que se medían únicamente los diámetros máximos de los ovocitos se tuvo la precaución de utilizar sólo las secciones que interesaban al núcleo. Se pre-

sentaron dificultades en la medición de los óvulos de núcleo disperso o difícilmente visible. En este caso se desecharon las secciones de ovocitos que nos parecieron corresponder a casquetes celulares. No se incluyeron en las mediciones los ovocitos menores de 28 micras (= 2 divisiones del micrómetro). Las gráficas han sido trazadas agrupando las frecuencias micrométricas de dos en dos.

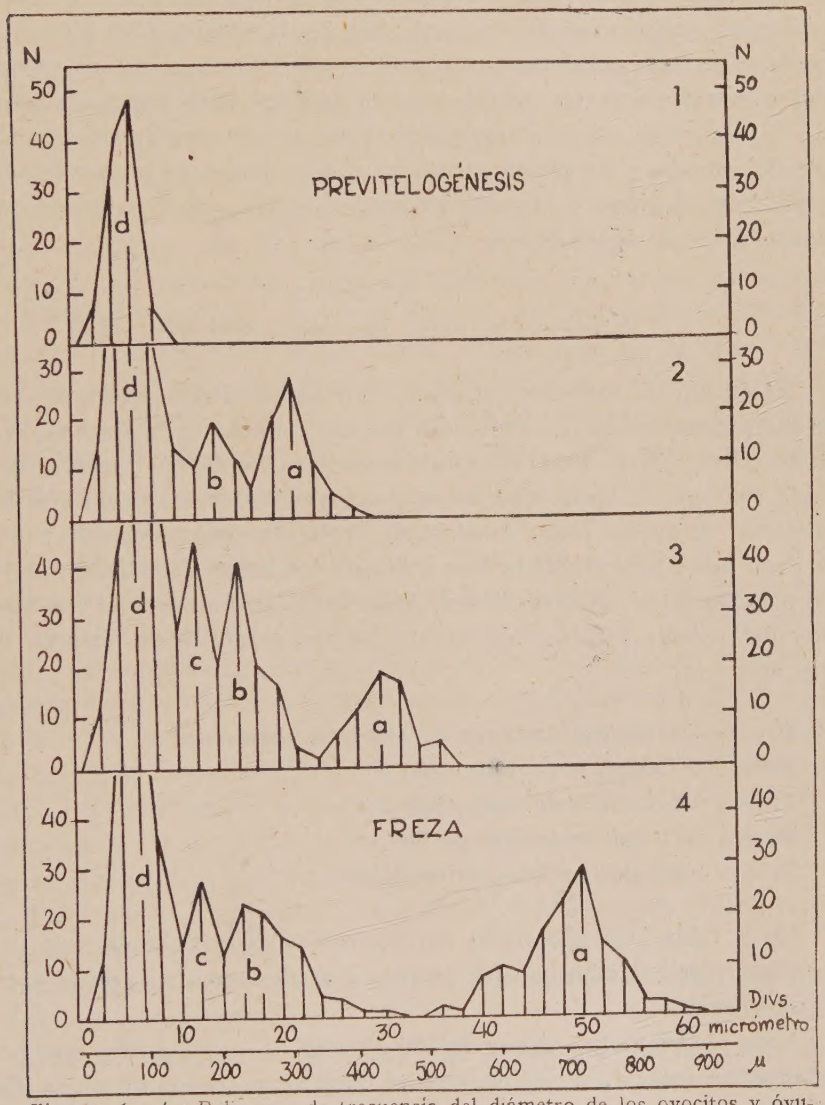
Las microfotografías que se acompañan han sido obtenidas por el Sr. L. Prieto con la gran cámara Zeiss; le agradecemos tan valiosa colaboración.

Damos las gracias al Dr. Navarro, Jefe del Servicio de Dermatología de la Casa de Salud Valdecilla, y al Dr. Cuesta Urcelay, Director del Laboratorio Oceanográfico de Santander, por las facilidades que nos han dado en sus respectivos laboratorios.

RESULTADOS

En las figuras 1-4 quedan expuestos gráficamente los resultados obtenidos en la medición de huevos intraováricos. La gráfica 1 representa las frecuencias de tamaño de los ovocitos de un ovario virgen en el que han sido movilizados tan sólo un pequeño número de ovocitos, que, como luego veremos, muestran en el citoplasma perinuclear multitud de gotitas lipídicas. En la gráfica 2 se destacan tres valores modales: el primero (*d*) corresponde a los ovocitos del «stock» general, y los otros dos (*a* y *b*) a otros tantos «stocks» de ovocitos en vías de maduración. En la figura 3, otro valor modal (*c*) se ha destacado del «stock» general de ovocitos, mientras que el vértice *a* señala un marcado avance en la maduración del grupo de ovocitos inicialmente movilizados, mostrando al mismo tiempo tendencia a separarse del vértice anterior (*b*). La gráfica 4 corresponde a un ovario en el momento culminante de la freza: los óvulos del grupo (*a*) han aumentado bruscamente de tamaño, existiendo una separación completa entre éstos y los precedentes. Todos los óvulos que forman este grupo presentan una voluminosa gota de grasa, y su vitelo aparece organizado en voluminosos gránulos. Mediciones de óvulos en este estado efectuadas en fresco, previa disociación de una porción del ovario, han registrado diámetros que varían entre 800 y 1.100 μ. Nos queda la duda de atribuir la diferencia hallada entre las mediciones en fresco y las expresadas en la gráfica, a los

efectos del fijador o bien a la acción de la presión intraovárica. Es de notar que nuestras mediciones en fresco coinciden con las efec-



Figuras 1 a 4.—Polígonos de frecuencia del diámetro de los ovocitos y óvulos intraováricos de sardinas en diversas fases de maduración sexual. Explicación en el texto.

tuadas por Raffaele (1888) para la esfera vitelina de los huevos planctónicos de la sardina del golfo de Nápoles (800-900 μ).

Nos parece interesante comparar estos resultados con los expuestos por Hickling y Rutenberg (1936), para el arenque, por tratarse de una especie en la que el comportamiento del ovario en la maduración es completamente diferente que en la sardina. En efecto, la curva construída por estos autores para los arenques en estado de madurez muestra únicamente dos valores modales muy separados entre sí: el primero de ellos es muy pronunciado y corresponde a los ovocitos del «stock» general, mientras que el segundo, muy poco acusado, representa el grupo de óvulos maduros que han sido movilizados todos a la vez de aquel «stock».

EL OVARIO A TRAVES DEL CICLO SEXUAL

El estudio histológico del ovario nos ha permitido distinguir cinco fases características en el curso del ciclo sexual de la sardina. Andrews (Ref. Clark, 1934) ha establecido para *Sardinops caerulea* una serie análoga de fases, que no se corresponden exactamente con las nuestras. A fin de evitar confusiones con esta denominación y con la dada por Clark (1934) hemos utilizado las letras del alfabeto griego para designar nuestras fases. Atendiendo al diámetro de los huevos del primer «stock» madurante las definimos de la manera siguiente:

Fase α.—Ovocitos menores de 100 μ de diámetro.
Fase β.—Ovocitos de 100 a 300 μ.
Fase γ.—Ovocitos de 300 a 500 μ.
Fase δ.—Ovocitos de más de 500 μ.
Fase ϵ.—Ovulos en vías de reabsorción.

En la tabla I se anotan las características específicas de cada una de ellas, y en relación con los estados sexuales empíricos de la escala internacional.

Fase α. (Diámetro menor de 100 μ).—Se caracteriza esta fase por la ausencia total de inclusiones en el citoplasma de los ovocitos. Estos presentan un aspecto muy característico (figs. 5 y 6): sección generalmente poligonal, a veces rectangular o triangular, y menos frecuentemente ovoidea o circular. Su repartición dentro del ovario es asimismo muy característica, estando regularmente alineados a lo largo de los septos ováricos (microfot. 1). El citoplasma, marcada-

mente basófilo, se tiñe intensamente por la hematoxilina. El núcleo, muy voluminoso, ocupa una buena parte de la célula, y muestra poca avidez por los colorantes, destacando por su tonalidad clara ante la fuerte coloración del citoplasma. Numerosos nucleolos de buen tamaño se encuentran en las inmediaciones de la membrana nuclear. Estas características han podido ser estudiadas en ovarios, que aún no han iniciado su maduración, de sardinas vírgenes.

En los ovocitos más avanzados en su desarrollo se pueden observar en el citoplasma dos zonas de afinidades cromáticas distintas y bien delimitadas (fig. 7), que se ponen de manifiesto con la coloración por la hematoxilina-Sudán III y también, en algunos casos, por la hematoxilina-eosina. La zona interna, de citoplasma perinuclear, ofrece una coloración menos intensa que la zona de citoplasma periférico, en el que persisten las mismas afinidades cromáticas de los ovocitos de menor tamaño. A partir de este momento (ovocitos de unas 100 μ de diámetro) empiezan a aparecer en la zona perinuclear citada una serie de gotitas lipídicas, que muestran color naranja intenso. No tardan en aparecer multitud de ellas, constituyendo un anillo compacto alrededor del núcleo. Debemos señalar que esta zona de gotitas lipídicas perinucleares sólo ha podido ser vista en ovarios de tránsito de la fase α a la fase β y en la fase β. En las otras fases, más avanzadas, los mismos ovocitos no presentan gotitas lipídicas perinucleares; si existen, están esporádicamente distribuídas en la zona cortical del citoplasma, como corresponde a los ovocitos de la fase β. Como señala Konopacka (1937), existe la posibilidad en estos casos de que todas las reservas lipídicas del ovario sean utilizadas en la formación del vitelo de aquellos ovocitos más avanzados en su maduración, con los cuales coexisten los primeros.

Esta fase es representativa del estado I de la escala sexual empírica de Belloc-Le Gall.

El examen en fresco de los ovarios muestra que todos los ovocitos son transparentes.

Fase β. (Diámetro 100-300 μ).—El ovario en esta fase se caracteriza por la movilización del primer «stock» de ovocitos destinados a la maduración. En éstos se observa un aumento considerable de volumen y una marcada tendencia a la esfericidad (fig. 8). Cuando estos mismos ovocitos se encuentran en presencia de otros en fases más avanzadas (microfot. 2) su contorno es completamente irregular.

El citoplasma sigue teniendo reacción marcadamente basófila, tiñéndose intensamente por la hematoxilina. El perímetro nuclear aparece cada vez menos intensamente definido. Las gotitas lipídicas se separan paulatinamente de la vecindad del núcleo y se hacen pericelulares, manteniéndose en el límite de las zonas citoplasmáticas descritas en la fase anterior (ver figura citada). No tardan en aparecer una serie de gotas claras, semejantes a vacuolas, de gran refringencia, que se disponen conjuntamente con las lipídicas en la zona cortical del ovocito formando una banda continua, separada del borde celular por una capa de citoplasma basófilo que persistirá hasta la última fase de maduración. Estas formaciones no coloreadas, de naturaleza protídica, fueron consideradas por diversos autores como simples vacuolas. Konopacka (1935) estudió la naturaleza de estas formaciones en dos peces de agua dulce (*Gobius gobio* y *Cyprinus carpio*), designándolas con el nombre de «gotas claras». Las gotitas grasas, muy abundantes, no tardan en dirigirse de nuevo a las proximidades del núcleo, al mismo tiempo que fusionándose paulatinamente en pequeños grupos van aumentando de volumen. Las gotas claras permanecen en la zona cortical del ovocito.

Los límites del núcleo se hacen cada vez más sinuosos.

El folículo, cuya formación se inicia en ovocitos de 100 a 150 μ con la aparición de elementos celulares muy aplanados y de núcleo ovoideo, se transforma en un estrato de células cúbicas de núcleo esférico al alcanzar estos ovocitos las 250-300 μ.

La zona radiada se hace visible en torno a los ovocitos de más de 200 μ.

A esta fase corresponden los estados II y III de la escala sexual empírica internacional, y la llamada «fase de maduración lenta» establecida por F. de Buen (1935).

El examen en fresco revela que los ovocitos continúan siendo transparentes, aunque con pequeñas inclusiones citoplasmáticas.

Fase γ. (Diámetro 300-500 μ).—Esta fase se caracteriza por tener lugar en ella la vitelogénesis propiamente dicha. En el seno del citoplasma tienen lugar profundas transformaciones que comienzan por una modificación en la reacción del protoplasma. Este, que antes era basófilo, ha pasado a ser acidófilo, persistiendo, sin embargo, la capa basófila periférica que permanece en contacto con la zona radiada (microfot. 3).

Los ovocitos se hacen más esferoideos a medida que aumenta su contenido en sustancias de reserva.

Las gotas de grasa, que iniciaron una emigración hacia el núcleo en la fase anterior, aparecen en las inmediaciones del mismo en forma de gotas más voluminosas (fig. 9). Las gotas claras (protídicas) abundan, especialmente en la periferia, y entre ellas aparecen multitud de diminutas granulaciones teñidas por la hematoxilina (¿granulaciones fosfoproteicas?).

En este intervalo el núcleo ha emitido profundas prolongaciones en el seno del citoplasma, en el que se empiezan a destacar los primeros gránulos de vitelo, que no tardarán en llenarle por entero, exceptuando la ya citada capa basófila periférica. En ocasiones el núcleo ha sido observado en posición muy excéntrica, cerca del borde del ovocito.

La zona radiada, que en principio media de 5 a 6 μ de espesor, ha engrosado visiblemente hasta alcanzar 7-8 μ (microfot. 3).

El folículo, por el contrario, tiende a hacerse de nuevo aplanado, habiendo perdido al final de esta fase su primitiva vitalidad (microfotografía 4). Sus células, distendidas, aparecen uniformemente teñidas por la hematoxilina, no quedando apenas indicios de sus respectivos núcleos. El estroma ovárico se ha reducido considerablemente, de manera que casi pasa inadvertido.

Esta fase puede considerarse equivalente a los estados IV y V de la escala sexual empírica, y a la de «maduración rápida» de F. de Buen.

Los ovocitos de los ovarios en esta fase muestran cierta opacidad examinados en fresco, enmascarándose por completo la presencia del núcleo.

Fase δ. (Diámetro mayor de 500 μ).—Lo más característico de esta fase es el rápido aumento de volumen experimentado por los óvulos coincidiendo con la fragmentación del núcleo y su ulterior disolución en el seno del citoplasma. Los gránulos de vitelo, de unas 10 μ en la fase anterior, alcanzan hasta 50 μ en esta fase madurativa, coincidiendo con la hidratación sufrida por el ovario maduro y que ha sido puesta de manifiesto por los trabajos de Milroy (1898) y Hickling (1945), ya citados en el preámbulo.

Las gotitas lipídicas se han ido condensando en gotas cada vez mayores hasta constituir una gota única de 130 a 140 μ de diámetro, que, como se ve, casi coincide con las mediciones practicadas por

Raffaele (1888) en los huevos plantónicos del golfo de Nápoles (160 μ de diámetro).

Un examen a pocos aumentos da la apariencia de que todos los óvulos del ovario están maduros, pero un examen más detenido muestra en los espacios interovulares otros ovocitos correspondientes a los «stocks» señalados en la figura 4 que, debido a la gran presión existente en el ovario están comprimidos, adoptando formas muy alargadas o poliédricas (microfot. 5). También los contornos ovulares han perdido su antigua esfericidad, dando el conjunto de zonas radiadas y folículo, un aspecto reticular al campo microscópico (microfotografía 5).

Quedan indicios de la zona basófila periférica, y entre los gránulos de vitelo se identifica el protoplasma fundamental, muy coloreado.

La zona radiada ha disminuído notablemente de espesor, pasando de 7-8 μ a 2-3 μ.

El folículo aparece atrofiado por completo, habiéndose transformado en una delicada membrana que permanece adherida a la zona radiada.

El estroma ovárico, prácticamente, ha desaparecido, y la envoltura ovárica ha reducido su espesor hasta unas 7 μ.

Esta fase corresponde al estado VI de la escala sexual empírica, y a la fase de «puesta» de F. de Buen.

Los óvulos, examinados en fresco, aparecen completamente translúcidos y repletos de voluminosos gránulos de vitelo transparentes, entre los cuales destaca una gota de grasa muy refringente.

Fase ε. (Reabsorción de óvulos residuales).—Con gran sorpresa advertimos, al estudiar histológicamente ovarios que habían sido catalogados dentro del estado VI de la escala sexual empírica, que en realidad ya no reunían condiciones de freza, sino que, por el contrario, ésta ya había terminado, quedando en el ovario un remanente de óvulos maduros en diversos estados de degeneración. El aspecto de estas gónadas es, en líneas generales, el de los ovarios maduros, aunque son de menor tamaño y presentan un color carmíneo característico. Debemos señalar que nuestro material fué fijado a principios del período de freza. Un estudio detenido de estos fenómenos podrá hacerse en lo sucesivo con nuevas aportaciones de material. No obstante, creemos de interés adelantar nuestras primeras observaciones en relación con estos procesos.

Comienzan estas manifestaciones histolíticas con la pérdida de la turgescencia primitiva de los óvulos, posiblemente debida a una disminución de la cantidad de agua. Los gránulos de vitelo van perdiendo paulatinamente su individualidad hasta constituir una masa amorfa, debida a los cambios sufridos en el estado coloidal del protoplasma, que acaba por flocular (microfot. 6). La persistente presión que existe en el ovario produce en estos óvulos frecuentes invaginaciones, adquiriendo éstos formas caprichosas (estrelladas, amiboides, etc.), hasta ser reabsorbidos por completo (figs. 10 a 12). Han sido observados por Andrews fenómenos de reabsorción en el ovario de *Sardinops cacrulea* (Ref. Clark, 1934); lamentamos no haber podido consultar el trabajo original de este autor.

Aunque en menor grado, también los ovocitos en vísperas de madurez son afectados por estos procesos degenerativos, como puede verse en las microfot. 7 y 8.

Es interesante señalar que con los primeros síntomas degenerativos aparece en el ovario un nuevo elemento celular que no puede ser comparado con ningún otro de los observados en las fases anteriores. Se trata de células de aspecto esferoidal y de núcleo puntiforme e hipercromático (microfot. 9). Estas células ocupan extensas zonas del ovario y de momento no hemos podido identificarlas. Por su aparición simultánea en el ovario con los fenómenos histolíticos es presumible que estén relacionadas con éstos.

PARTICULARIDADES DE LA FREZA

En el capítulo precedente ha sido confirmada, en líneas generales, la descripción del ovario de sardina dada por Biétrix (1890) en relación con el progresivo debilitamiento del estroma ovárico en el curso de la maduración, así como la individualidad alcanzada por los ovocitos a medida que éstos aumentan de tamaño.

Hemos de añadir que si bien la maduración sexual se inicia en los bordes inferoparietales del ovario, considerado *in situ*, cuando ésta alcanza su plenitud (microfot. 5), toda la masa del ovario ofrece un aspecto semejante, según demuestran nuestras preparaciones.

En las condiciones señaladas tiene lugar la freza. Sobre las particularidades de ésta Biétrix habla de rotura de la membrana envolvente y caída de los óvulos, aunque no ha sido observada rotura

TABLA I.—*Fases mad*

1.	FASES MADURATIVAS	α	β
2.	ESTADOS SEXUALES	I	II-III
3.	DIAMETRO HUEVOS	< 100 μ	100-300 μ
4.	ASPECTO EXTERNO DEL OVARIO EN FRESCO...	Incoloro, casi filiforme.....	Rosado, tendencia a opacida citos no visibles.....
5.	HUEVOS EN FRESCO....	Transparentes, núcleo visible.....	Transparentes, con inclusion refringentes.....
6.	CITOPLASMA.....	Muy basófilo, sin inclusiones.....	Basófilo, con granulaciones.
7.	LIPIDOS.....	sin	En gotitas perinucleares, lue ricelulares.....
8.	GRANOS CLAROS.....	sin	Pericelulares, alineados con titas lipídicas.....
9.	GRANULOS FOSFOPROTEICOS.....	—	—
10.	VITELO.....	sin	sin
11.	NUCLEO.....	Voluminoso, hipocromático, bien definido.....	Límites sinuosos.....
12.	FOLICULO.....	sin	Primero aplanado, luego cúb
13.	ZONA RADIADA.....	sin	De 5-6 μ de espesor.....

el ovario de sardina

γ IV-V 300-500 μ	δ VI > 500 μ	ε VII —
, opaco; ovocitos bien visi-.....	Globiforme, aspecto gelatinoso, transparente.....	Carmíneo transparente. Reducción de tamaño. Necrosis.
. Repletos de vitelo. Núcleo iscado.....	Completamente transparentes. Gota de grasa.....	No esféricos.
lo, lleno de pequeños grás.....	Acidófilo. Repleto de voluminosos gránulos.....	Acidófilo. Síntomas degenerativos.
cercanas al núcleo.....	Unica y muy voluminosa (140 μ)..	Vacuolizados y fragmentados.
antes, pericelulares.....	—	—
os granos claros ectoplasmá-.....	—	—
nulos de hasta 10 μ.....	En gránulos de hasta 50 μ.....	Gránulos mal definidos, en degeneración.
randes prolongaciones en el plasma. Con frecuencia exrico.....	No aparente o restos.....	No aparente.
planado, atrófico.....	Atrofiado, adherido a la zona radiada.....	Poco visibles o degenerados.
μ de espesor.....	De 2-3 μ de espesor.....	Mucho tiempo visible.

alguna en los ovarios estudiados en estado VII. Es muy posible que el desprendimiento y expulsión tenga lugar a través del poro genital, bajo la acción de la fuerte presión intraovárica existente, sin que ello implique rotura alguna de la envoltura ovárica. Sea como fuere y teniendo en cuenta el empaquetamiento de huevos existente, así como la falta de conexión entre ellos, en el transcurso de la freza los ovocitos han de ser también arrastrados al exterior.

Si a ello añadimos que la estructura del ovario sufre profundos cambios histológicos en el curso de la maduración y freza (debilitación del estroma y folículos, independencia de los óvulos y ulterior reabsorción de óvulos residuales y ovocitos), es de suponer que la reorganización del ovario habrá de ser forzosamente un proceso lento.

Dado que el período de freza para la sardina es relativamente corto, cabe suponer que de los diversos valores modales anotados en la curva 4.ª (fig. 1-4), tan sólo el último tendrá valor efectivo y no en su totalidad. Los demás grupos destacados, correspondientes a otros tantos valores modales de la curva, o bien serán expulsados conjuntamente con los óvulos maduros o estarán condenados a degenerar antes de iniciarse el próximo ciclo de maduración.

Por último, es interesante considerar la curva trazada por M. A. Hickling (1945) con datos de Russell, sobre el número de huevos planctónicos de las aguas de Plymouth. Se ve que esta curva tiene forma casi simétrica respecto a un valor modal muy elevado que corresponde al mes de junio, coincidiendo con la época de mayor peso medio de los ovarios de sardina, determinado por aquel autor. Si en realidad *Sardina pilchardus* realizara varias puestas en una misma estación de freza (como ha observado Clark en *Sardinops caerulea*), las características de la curva de Hickling serían probablemente diferentes.

Resumen

1.—Mediante medición del diámetro de los óvulos intraováricos de hembras maduras de sardina (*Sardina pilchardus* Walb.) se obtiene un polígono de frecuencias con múltiples valores modales, lo que sugiere que cada sardina puede frezar más de una vez en cada estación de puesta.

2.—Las modificaciones del ovario en el curso de la vitelogénesis ponen de manifiesto que el estroma ovárico y los folículos se hacen cada vez más débiles. En el momento de la maduración los óvulos quedan retenidos solamente por la delicada envoltura ovárica.

3.—La maduración simultánea de la mayor parte del «stock» de ovocitos más desarrollados, en todas las zonas del ovario, produce un considerable aumento de volumen lo que obliga a los óvulos a comprimirse entre sí violentamente, comprimiendo y deformando a su vez a los «stocks» de ovocitos más atrasados que serán arrastrados en la freza entre los espacios interovulares.

4.—Los óvulos residuales maduros que han sido retenidos en el ovario no tardan en presentar los primeros fenómenos degenerativos que les conducirán a una completa reabsorción. Los ovocitos resisten más a la acción histolítica.

5.—Lo expuesto en 2, 3 y 4 hace presumible que los «stocks» secundarios de ovocitos en maduración señalados en 1 no puedan considerarse como núcleos de futuras frezas en una misma estación.

Summary

1.—Measurements of the diameter of intraovarian ova in ripe females of *Sardina pilchardus* Walb. shows a plurimodal distribution, and would suggest perhaps that every fish is able to spawn more that once every season.

2.—In the course of vitellogenesis, follicula and ovarian stroma become inconspicuous. At ripeness the ova are retained only through a delicate ovarian envelope.

3.—Simultaneous ripening of the more advanced ovocytes in the different parts of ovaria, determines an increase of volume and the mutual compression of the ova pressing and deforming the stocks of minus evolved ovocytes, that will be dragged along by spawning, when their groupes lie intermingled with the ripe ova.

4.—Residual ripe ova that have been retained in the ovaria, shows soon the first signs of degeneration that will end in complete reabsorption. Ovocytes are more resistent to hystolisis.

5.—The items 2, 3 and 4 make probable that the secondary stocks of ovocytes with retarded ripening, whose presence has been demonstrated in 1, should not be considered as promise of future spawning in the same season.

Bibliografía

Andreu, B. 1948. Algunos datos sobre la fecundidad de la sardina. *Bol. Inst. Español de Oceanografía*, núm. 4.—Observations sur la ponte de la Sardine de la côte Est d'Espagne en hiver, 1948-1949, *Annales Biologiques*. Conseil Intern. p. l'Expl. de la Mer (en prensa).—1950. Sobre la maduración sexual de la anchoa («Engraulis encrasicholus») de las costas Norte de España. *Publ. Inst. de Biol. Aplicada*. Barcelona, VII.

Andrews, C. B. (M. S.) The development of the ova of the California sardine («Sardina caerulea»). *Ref. en Clark*. 1934.

Bietrix, E. 1890. L'oeuf de la sardine. *Jour. Anat. Physiol.* París, 26.

Buen, F. de. 1935. Clupeides et leur pêche. VI Rapp. 4.ª nota. *Rapp. Proc. Verb.* N. S. Cons. Intern. p. l'expl. de la Méditerranée. París.

Clark, F. N. 1925. The life history of «Leuristhes tenuis». *Fish. Bull.* Bur. of Marine Fisheries of California, núm. 10.—1934. Maturity of the California Sar-

dina («Sardina caerulea») Determined by Ova Diameter Measurements. *Fish Bull.* Bur. of Mar. Fish. of California, núm. 42.

Desbrosses, P. 1933. Étude de la sardine de la côte de Bretagne, depuis Concarneau jusqu'à l'embouchure de la Loire. *Rev. des Trav. de l'Off. Scient. et Techn. Pêches maritimes.* T. V, fasc. 1.

Fage, L. 1920. Engraulidae, Clupeidae. *Rap. of the Danish Ocean. Exp. 1908-1910 to Medit. and adjacent Seas.* A 9, II, Biology.

Heidrich, H. 1925. Über die Fortplanzung von «Clupea sprattus» in der Kieler. Bucht. *Wiss. Komm. Unters. d. deut. Meere in Kiel* (Abt. Kiel). N. F. Bd. 20, H. 1. (*Ref. en Hickling y Rutenberg*).

Hickling, C. F. 1930. The natural history of the hake. Part III. *Fisheries Investigations, Min. of Agric. and Fish.* Ser II. Vol. XII, núm. 1. (*Ref. Hickling, C. F. y Rutenberg*).

— — y Rutenberg, E. 1936. The ovary as an Indicator of the Spawning Period in Fishes. *Journ. Mar. Biol. Ass.* Vol. XXI, núm. 1.

Hickling, M. A. 1945. The seasonal cycle in the cornish pilchard, «Sardina pilchardus» Walb. *Journ. Mar. Biol. Ass.* Vol. XXVI, núm. 2.

Kisselevitch, K. A. 1923. Materials on the Biology of the Caspian Herrings. *Reports of the Ichthyolog.* Vol. V, núm. 1. (*Ref. Hickling y Rutenberg*).

Konopacka, B. 1937. Recherches histochimiques sur le développement des Poissons. II. *Pubb. St. Zool. di Napoli.* Vol. 16, fasc. 3.

Le Gall, J. y Priol, E. P. 1933. Observations sur la ponte de la Sardine du Nord du Golfe de Gascogne et de la Manche. *Rev. Trav. Off. Sc. et Tech. Pêches Mar.* T. VI, fasc. 3.

Mayenne, V. A. 1927. Beobachtungen über die Veränderungen des Eierstockes des Barsches («Perca fluviatilis»). *Rev. Zool. Russe.* T. VII, 1, 4. (*Ref. Hickling y Rutenberg*).

Milroy, T. H. 1898. The physical and chemical changes taking place in the ova of certain marine teleosteans. *Fish. Scotland Sc. Invest.* 16 th Rep. (*Ref. Hickling, M. A., 1945*).

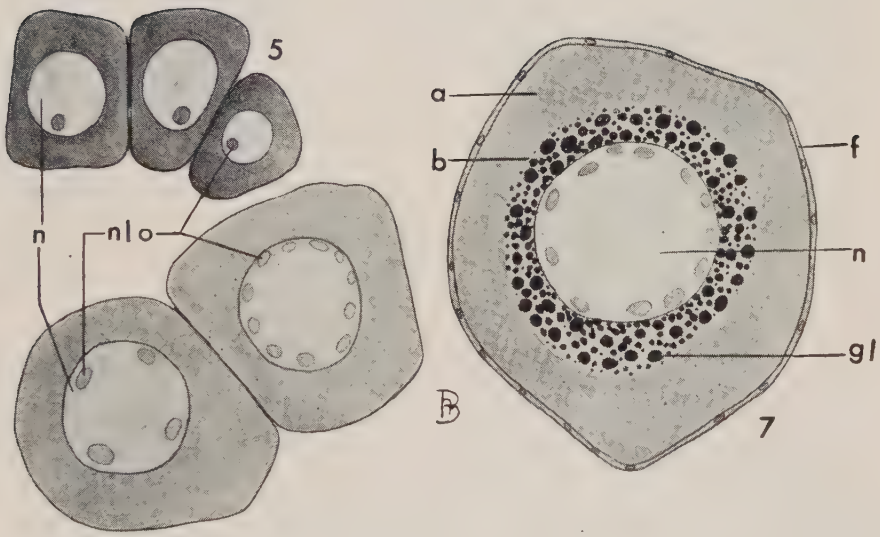
Murat. M. 1935. Contribution à l'étude de la Sardine («Sardina pilchardus» Walb.) de la Baie de Castiglione. *Bull. St. Aquicult. et Pêche Castiglione.*

Raffaele, F. 1888. Le uova gallegianti e le larve dei Teleostei nel golfo di Napoli. *Adbruck aus den Mitteilungen aus der Zool. St. zu Neapel.* VIII. (*Ref. Hickling y Rutenberg*).

Rait, D. S. 1932. The fecundity of the Haddock. *Fish. Scottland. Sci. Invest.* n.º 1.

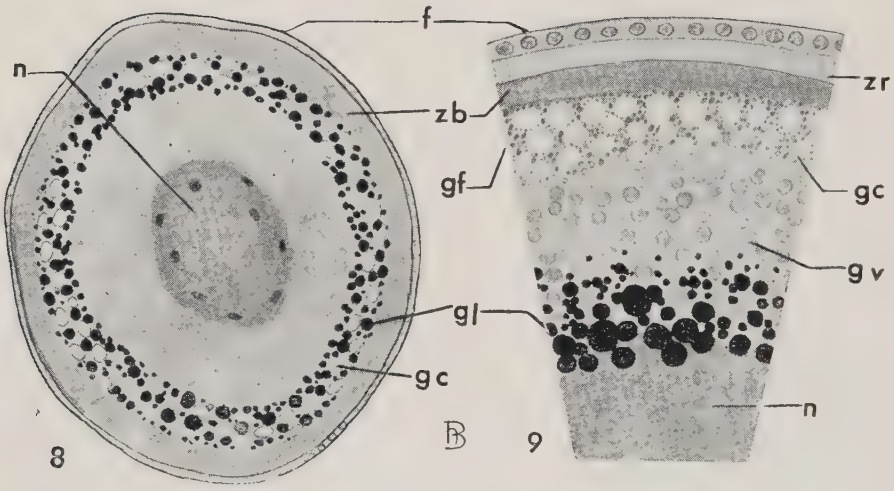
Romeis, B. 1943. Taschenbuch der Mikroskopischen Technik. R. Oldenbourg. Munich y Berlín.

Thompson, W. F. 1915. The life History of the Halibut *Rep. Commissioner of Fisheries.* British Columbia. Victotia B. C.

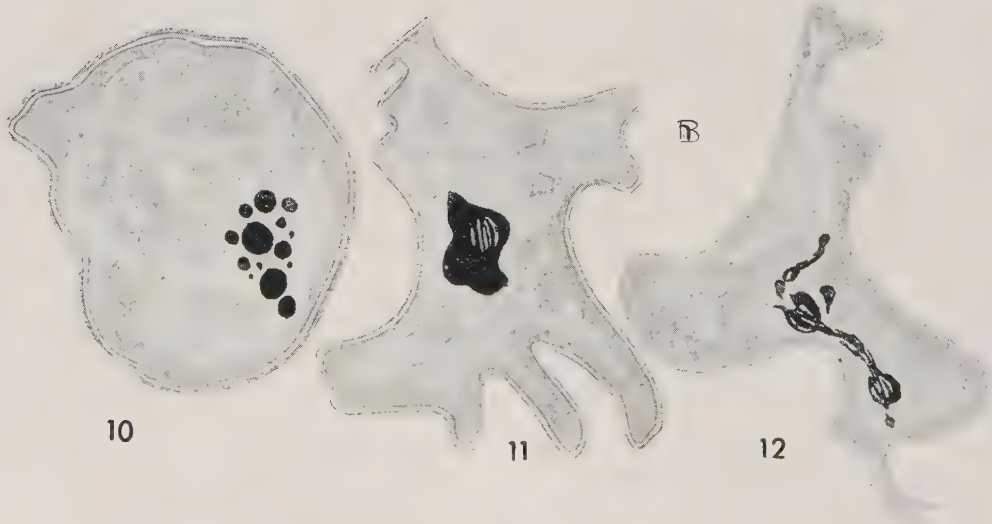


Figuras 5 a 7.—5 y 6, ovocitos de **40** μ y **70** μ respectivamente (diámetro máximo) en fase α (previtelogénesis). **7**, ovocito de **100** μ con numerosas gotitas lipídicas perinucleares.

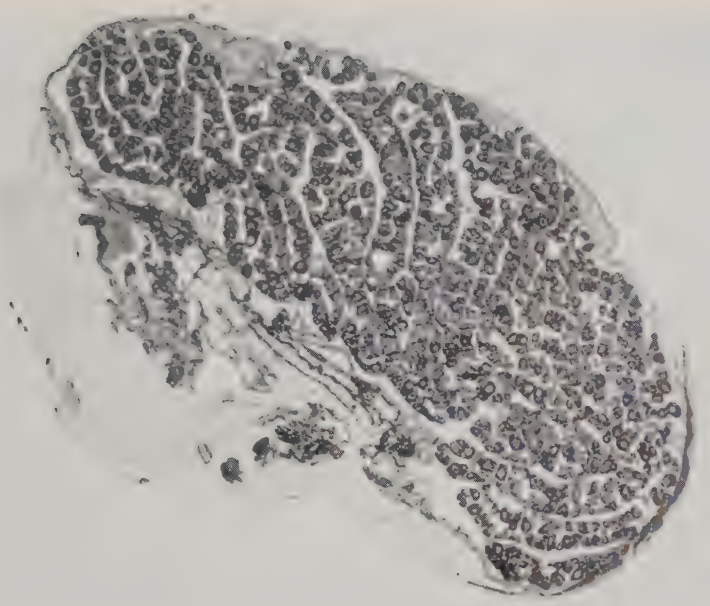
a, Zona cortical de citoplasma basófilo; *b*, zona de gotitas lipídicas, de citoplasma menos coloreado (color malva); *f*, folículo; *gl*, gotitas lipídicas; *n*, núcleo, y *nlo*, nucléolos.



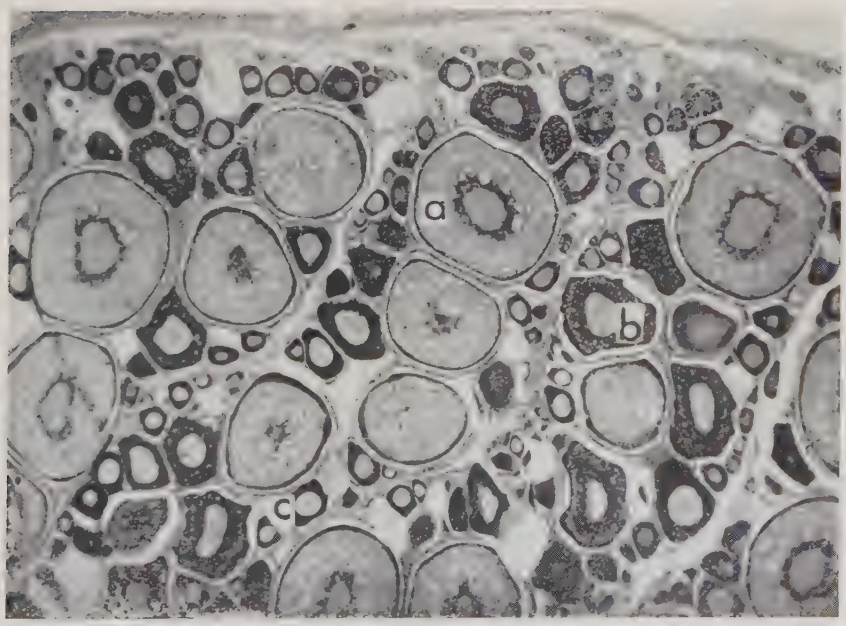
Figuras 8 y 9.—*8*, ovocito en fase *β*, de 227 *μ*; *gc*, gotas claras (protídicas); *gl*, gotitas lipídicas; *zb*, zona de citoplasma basófilo. *9*, ovocito en fase *γ*, de 350 *μ*; aparición de los gránulos de vitelo (*gv*) y de las gotas fosfoproteicas (*gf*); *zr*, zona radiada; lo demás como las figs. *5* a *7*.



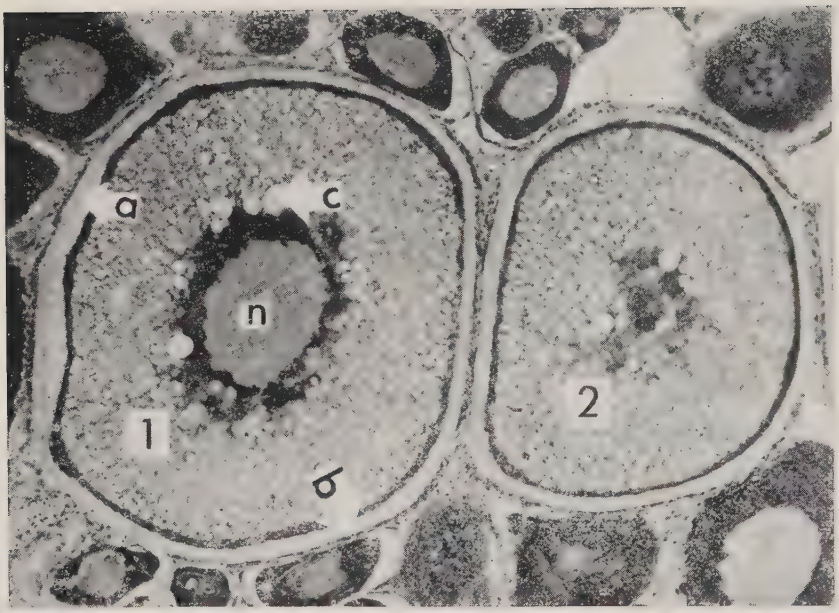
Figuras 10 a 12.—Ovulos maduros en distintas fases degenerativas. En *10*, las gotitas de grasa aún no se habían fusionado. *11* y *12*, vacuolización y dispersión de la gota de grasa.



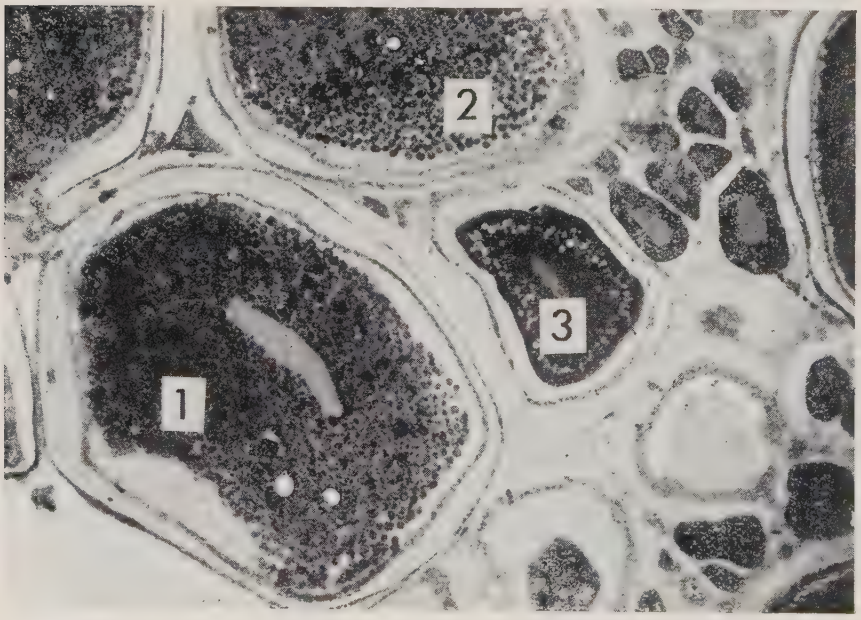
Microfot. 1.—Ovario de sardina virgen que todavía no ha iniciado el primer ciclo de maduración sexual. 28x. Sudán III-hematoxilina.



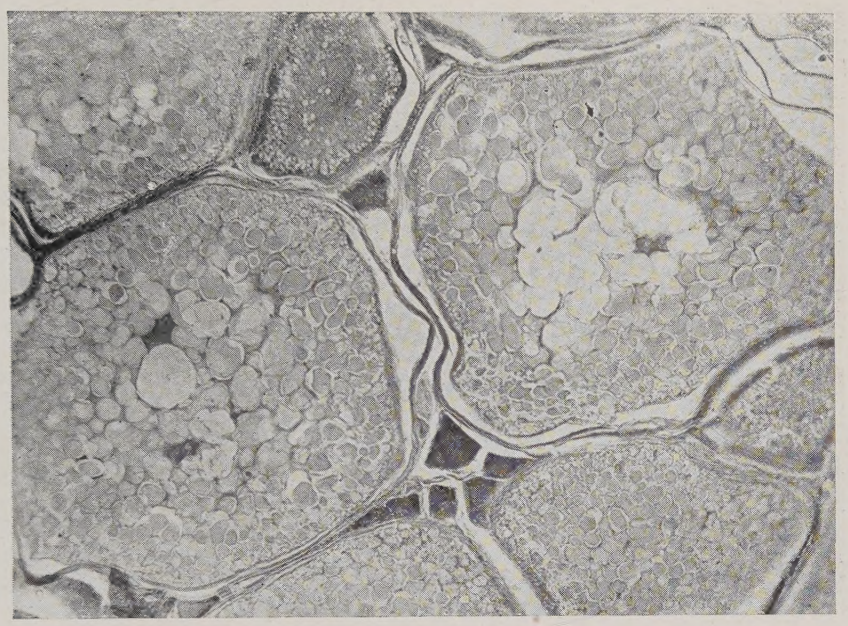
Microfot. 2.—Ovario de sardina en que ha dado comienzo la vitelogénesis propiamente dicha (*a*); *b*, ovocitos en fase β; granulaciones claras (protídicas) y lipídicas (éstas disueltas por el alcohol) dispuestas periféricamente; *c*, ovocitos del «stock» general, no movilizado. Los septos ováricos cruzan el campo oblicuamente. 45x. Hematoxilina-eosina.



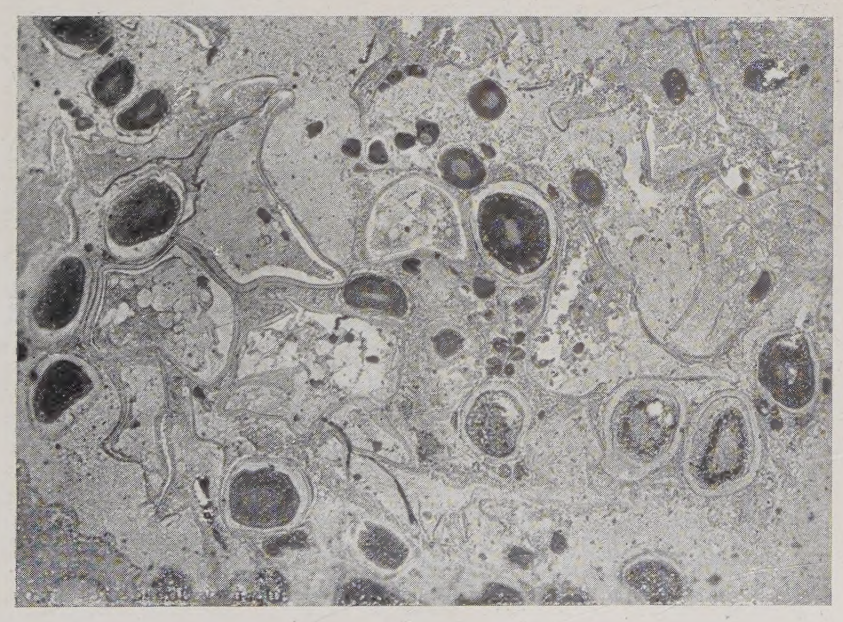
Microfot. 3.—Ovario en fase γ: El ovocito *1* deja ver las finas estriaciones de la zona radiada (*a*); *b*, folículo que empieza a atrofiarse; *c*, gotitas lipídicas disueltas por el alcohol; *n*, núcleo. *2*: Ovocito seccionado a la altura de las sinuosidades nucleares periféricas. 142x. Hematoxilina-eosina.



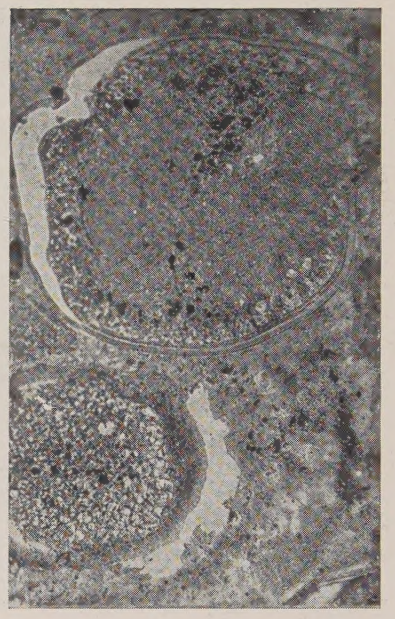
Microfot. 4.—Ovario al final de la fase γ: *1* y *2*, ovocitos repletos de gránulos de vitelo. En negro, gotas lipídicas muy teñidas. Periféricamente gotas protídicas, claras. *3*, ovocito en fase β: periféricamente, banda de gotas protídicas entre las que se observan otras lipídicas; la coloración intensa del citoplasma impide que éstas se vean netamente. 150x. Sudán III-hematoxilina.



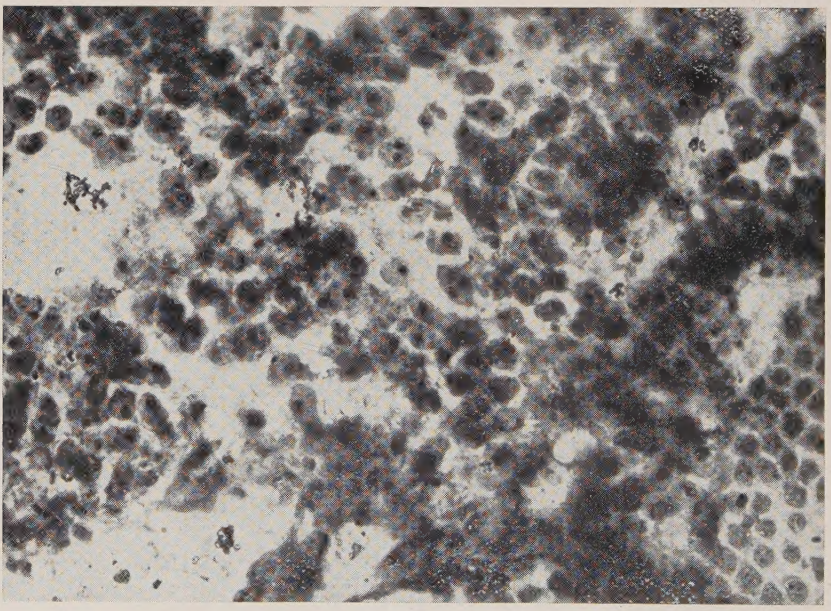
Microfot. 5.—Ovario en fase δ (de freza). Los alcoholes han disuelto la grasa. Ovulos de forma poliédrica a causa de la presión intraovárica. El folículo, que aparece ordinariamente adherido a la zona radiada, se ha separado en el ángulo superior derecho de la fotografía. 80x. Hematoxilina-eosina.



Microfot. 6.—Ovario en fase ε (post-freza). Abundan las formas degenerativas, sobre todo de óvulos maduros. 30x. Sudán III-hematoxilina.



Microfot. 7 *y* 8.—Formas degenerativas de ovocitos no maduros. Los gránulos negros son gotas de grasa. 7: 90x 8: 100x. Ambas Sudán III-hematoxilina.



Microfot. 9.—Campo de células con núcleo puntiforme muy abundantes en ovarios de postfreza y de aparición simutánea a los fenómenos degenerativos. En el ángulo infero-derecho sección transversal de un folículo. 458x. Hematoxilina-eosina.

24.—Emilio Anadón: «Sobre la sustitución alternativa en el litoral gallego de los llamados peces emigrantes (sardina, espadín, anchoa y jurel)».

25.—E. Jimeno, S. Medina-Castellanos y J. Aravio-Torre: «Contribución al estudio de las pinturas submarinas para barcos de acero. II. Estudio de la protección activa de los pigmentos».

26.—M. Oliver: «Estudios sobre el Espadín (*Clupea sprattus* L.) de la costa noroeste de España».

27.—Josefa Sanz-Echeverría: «Notas sobre otolitos de peces procedentes de las costas del Sáhara. Segunda parte».

28.—Guillermo Colom: «Exploración oceanográfica del Africa Occidental. Estudio de los Foraminíferos de muestras de fondo recogidas entre los Cabos Juby y Bojador».

29.—Joaquín Gómez de Llarena: «Exploración oceanográfica del Africa Occidental. Observaciones sobre los sedimentos recogidos entre los Cabos Juby y Bojador».

30.—Luis Bellón: «Pesca y utilización del Boquerón y de la Sardina en las costas de Málaga».

31.—José M.ª Navaz: «Contribución al estudio de los Escómbridos de la costa vasca (atún, bonito y melva)».

32.—José M.ª Navaz y Francisco de P. Navarro: «Nuevos datos sobre la sardina y la anchoa de la costa vasca».

33.—R. Fernández y F. de P. Navarro: «Observaciones sobre la sardina de Santander (octubre de 1948 a octubre de 1949)».

34.—Emma Bardán y F. de P. Navarro: «Nuevos datos sobre la sardina de Málaga».

35.—Miguel Massutí, Teresa Valls y F. de P. Navarro: «Nuevas observaciones sobre la sardina y la alacha de Baleares».

36.—Fernando Lozano: «Notas sobre el Bonito del Norte o Albacora [*Germo alalunga* (Gml.)] de Galicia».

37.—Miguel Massutí y Francisco de P. Navarro: «Tintínidos y Copépodos planctónicos del Mar de Alborán (Campaña del «Xauen» en agosto y septiembre de 1948)». (Con una breve necrología del Dr. Massutí).

38.—Campaña del Malaspina en enero de 1950 en aguas del Sáhara, desde Punta Durnford a Cabo Barbas. Registro de operaciones.

39.—M.ª Dolores García Pineda: «Efectos del lavado previo en la extracción de componentes útiles de las algas pardas».

40.—M.ª Jesús del Val y Dominica Montequi: «Sobre el aislamiento de los componentes glucídicos de las algas pardas».

NOTA.—Pedidos y correspondencia al Sr. Secretario del Instituto Español de Oceanografía, Alcalá, 27. Madrid.

IMP. C. BERMEJO.-TEL. 33-96-19